

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. K. Zipf

Zum Nachweis der Vergiftung durch Cumarinderivate beim Hund

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
HUGO O. SCHWIETERS
aus Rosario/Argentinien

München 1970



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548328_0073

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. K. Zipf

Zum Nachweis der Vergiftung durch Cumarinderivate beim Hund

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
HUGO O. SCHWIETERS
aus Rosario/Argentinien

München 1970

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. I. Gylstorff
Referent: Prof. Dr.Dr. h.c. K. Zipf
Korreferent: Prof. Dr. E. Dahme

Tag der Promotion: 12. Februar 1970



INHALTSANGABE

	Seite
I. <u>EINLEITUNG</u>	1
II. <u>VERGIFTUNGEN DURCH CUMARINDERIVATE</u> <u>BEIM HUND</u> (Literaturübersicht)	2
III. <u>EXPERIMENTELLER TEIL</u>	4
1. <u>Material und Methodik</u>	4
Wirkstoffe, Formulierungen	4
Versuchstiere und Wirkstoffzufuhr	6
Untersuchungs- und Sektionsmaterial ...	6
Wirkstoffnachweis, Reagenzien, Durch- führung der Bestimmung	6
2. <u>Ergebnisse</u>	10
A. Versuche mit Ratten	10
B. Versuche mit Hunden	11
Kasuistik	11
Zerlegungsbefund	13
Wirkstoffnachweis	13
C. Sektionsmaterial	16
3. <u>Diskussion</u>	21
4. <u>Zusammenfassung der Ergebnisse</u>	24
(Summary)	
IV. <u>LITERATURNACHWEIS</u>	25
LEBENS LAUF	29

I. E I N L E I T U N G

Intoxikationen beim Hund durch Aufnahme von Rodentiziden auf Cumarinbasis sind relativ häufig. Sie sind - ätiologisch gesehen - praktisch immer auf Fahrlässigkeit seitens der Tierbesitzer zurückzuführen.

Der Verdacht einer Cumarin-Vergiftung läßt sich aus der Zerlegung der verendeten Tiere aufgrund des pathologisch-anatomischen Sektionsbefund recht sicher ableiten.

Der Nachweis einer Cumarin-Vergiftung erfordert eine chemisch-toxikologische Untersuchung. Für die Praxis ist ein qualitativer Nachweis ausreichend, da nur hier - bei den bekannten Methoden - der Aufwand für die Analyse im annehmbaren Kostenverhältnis zum Ergebnis steht.

Vorliegende Arbeit berichtet über Erfahrungen mit dem UV-spektroskopischen Nachweis einiger Rodentizide auf Cumarinbasis in einer Anzahl von Fällen mit diesbezüglichem Vergiftungsverdacht bei Hunden.

Zur Kontrolle wurde eine entsprechend große Zahl von Hunden gemäß Praxisbedingungen experimentell vergiftet. Zusätzlich wurden Organe vergifteter Ratten analysiert.

II. VERGIFTUNG DURCH CUMARINDERIVATE BEIM HUND
(Literaturübersicht).

KLAUSMANN und BROWN (1952) beschreiben eine Serie böswilliger Vergiftungen von Hunden mit Warfarin. Die Vergiftungsursache wurde indirekt und qualitativ aufgrund des Vorberichts, des klinischen Vergiftungsbildes und der vergleichend pathologisch-anatomischen Untersuchung (Verfütterung von Asservaten an Ratten und Mäuse) ermittelt.

Über eine Warfarin-Vergiftung bei einem Boxer berichtet TAYLOR (1952). Vorbericht, Klinik und Zerlegungsbefund sicherten auch hier die Diagnose.

Entsprechende klinische Erfahrungen nach experimenteller Vergiftung von Hunden mit Oxycumarin teilen RUTQUIST, BÖRNFORS und BRAG (1954) mit. Die toxische Wirkung des Oxycumarins wird anhand der charakteristischen Blutungen (Magen und Darm, Subkutis, Pleura und Mediastinum) sowie der Prothrombinzeitverlängerung erkannt.

Der von COTCHIN und CARTER (1955) angegebene Fall einer Warfarin-Vergiftung bei einem Hund war aufgrund der Vorgeschichte eindeutig; der Sektionsbefund erbrachte den Beweis.

Für Warfarin-Bestimmungen in Organen (Hunde, Schweine) benützen BENTZ und KÜHNERT (1959) das charakteristische UV-Absorptionsspektrum von Cumarinderivaten. Die Aufbereitung des Organmaterials erfolgt nach dem von GARNER (1956, 1957 a) angegebenen Extraktionsverfahren.

WANNTORP (1960) bedient sich zum Nachweis von Warfarin und

Cumachlor ebenfalls der UV-spektroskopischen Methode und modifiziert das im Prinzip von GARNER (1956) vorgeschlagene Extraktionsverfahren. Die experimentelle Vergiftung von Hund und Schwein durch beide Cumarinderivate wird analytisch qualitativ und quantitativ erfaßt.

Mehrere Warfarin-Vergiftungen bei Windhunden beschreiben BOWDEN, BAXTER und HODGMAN (1960). Die Tiere hatten mit Exkrementen vergifteter Ratten und Mäuse verunreinigtes Futter aufgenommen. Die Diagnose wurde aufgrund des Vorberichts und der Sektionsergebnisse erhoben.

Die Toxizität von Cumachlor für Hunde ermittelt experimentell LAMMERS (1961) und stellt die Diagnose mit Hilfe der klinischen, hämatologischen (Prothrombinzeitbestimmung) und postmortalen Untersuchung.

Sekundär-Intoxikationen von Hunden durch Aufnahme warfarinvergifteter Nagetiere liegen nach PRIER und DERSE (1962) außerhalb praktischer Gegebenheiten.

RÜSSEL (1964) weist Cumarin-Vergiftungen beim Hund nach Wirkstoff-Extraktion aus Organen mittels Farbreaktionen dünnschichtchromatographisch nach.

UV-Spektroskopie sowie Prothrombinzeitbestimmungen benützt ERLÉNBECK (1966) zum Nachweis von Cumarinverbindungen nach experimenteller Vergiftung von Hunden.

Bei Untersuchungen zur Frage der Sekundärvergiftung von Hunden (und Nerzen) durch Verzehr cumarinverfolgter Nagetiere legen EVANS und WARD (1967) klinische Vergiftungssymptome, Sektionsbefund und Prothrombinzeitbestimmungen als Kriterien zugrunde.

III. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Material und Methodik

Wirkstoffe

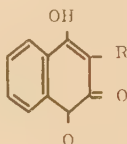
4-Hydroxy-Cumarin (Schuchardt, München)

Cumachlor: 3-(α -p-chlorphenyl- β -acetyläthyl)-4-hydroxycumarin.

Cumatetralyl: 3-(α -tetralyl)-4-hydroxycumarin.

Pival (Indandion): 2-Pivaloyl-1,3-indandion.

Warfarin: 3-(α -phenyl- β -acetyläthyl)-4-hydroxycumarin.

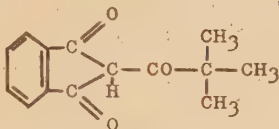


Grundgerüst

R	Verbindung
-OH	3,4-Hydroxycumarin
	Cumachlor
	Cumatetralyl
	Warfarin

Pival

2-Pivaloyl-1,3-indandion



Formulierungen ^{x)}

Die Formulierungen enthalten einen Wirkstoffgesamtgehalt unter 1%. Die Farbangabe bedeutet die Warnfarbe (Kennzeichnung).

Actosin-P^(R), (Schering AG, Berlin). Wirkstoffe: Warfarin und Pival (blau).

Alferex^(R), (CELA Landwirtschaftliche Chemikalien GmbH, Ingelheim/Rhein). Wirkstoff: Warfarin (rosa).

Contrax^(R)-flüssig, (W. Frowein, Ebingen). Wirkstoff: Warfarin (blaue Flüssigkeit).

Cumarax^(R), (C.F. SPIESS und Sohn, Kleinkarlbach). Wirkstoff: Warfarin (rosa).

Racumin^(R), (Bayer, Leverkusen). Wirkstoff: Cumatetralyl (blau).

Tomorin^(R), (Thompson Werke GmbH, Düsseldorf). Wirkstoff: Cumachlor (hellblau).

^{x)} Für die freundliche Überlassung von Versuchsmengen möchten wir den Herstellerfirmen an dieser Stelle verbindlich danken.

2. Versuchstiere und Wirkstoffzufuhr

Ratten: 200 bis 350 g schwere männliche und weibliche Tiere eines institutseigenen Stammes. Altromin^(R) Futter, und Wasser. Die Tiere erhielten die Rodentizide peroral (Futterbeimischung) bzw. mit dem Trinkwasser (Contrax^(R)) - flüssig) verabreicht.

Jeweils drei Gruppen zu je 3 Tieren erhielten Dosen von 1, 2, 5 und 8 mg/kg Formulierung mit dem Futter vermischt täglich innerhalb von 5 Tagen verabreicht. Trinkwasser ad libitum.

Hunde: 9 männlichen und weiblichen Bastarden wurden die Wirkstoffe mit dem Futter (gekochtes Fleisch, Haferflocken/Reis, Wasser) vermischt, sowie zusätzlich - bei Futterverweigerung - mit der Magensonde verabreicht.

Untersuchungs- und Sektionsmaterial

Organe (Leber, Mageninhalt) der Versuchstiere und Organproben (Leber, Niere, Magen) in Fällen von Vergiftungsverdacht bei Hunden mit Rodentiziden auf Cumarinbasis (Untersuchungsgut aus dem Tierpathologischen Institut der Universität München).

Wirkstoffnachweis

UV-spektroskopische Bestimmung des 4-Hydroxycumarins.

Reagenzien (pro analysi)

Diäthyläther, DAB 7

Äthanol (96%)

Schwefelsäure, 2n

Essigsäure, konz.

Natriumpyrophosphat (2%)

Natriumsulfat (wasserfrei)

Aluminiumoxyd (Aktivitätsstufe I)

Durchführung der Bestimmung

50 g homogenisiertes Untersuchungsmaterial (frisch oder nach Tiefkühlagerung) werden mit 5 ml Schwefelsäure (2n) angesäuert und 1 Std lang mit 75 ml Diäthyläther und 50 ml Äthanol geschüttelt. Das Gemisch wird 20 min lang bei 2000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird im Scheidetrichter mit 100 ml angesäuertem Wasser (5 ml 2n Schwefelsäure) verdünnt und 2-3 min lang geschüttelt. Nach Abtrennung der Ätherschicht wird die wäßrige Phase noch zweimal mit Äther extrahiert. Die Ätherextrakte werden mit 2x20 ml und 1x10 ml einer 2%igen wäßrigen Lösung von Natriumpyrophosphat ausgezogen. Die Pyrophosphatlösung wird anschließend angesäuert (2n Schwefelsäure) und 3x mit Diäthyläther (10, 10, 5 ml) extrahiert. Der Ätherextrakt wird getrocknet (wasserfreies Natriumsulfat), filtriert, eingengt und chromatographiert (Aluminiumoxyd, Akt. I, Säule 10x1 cm).

Der Wirkstoff wird anschließend mit saurem Äthanol (96%ig 10 ml + 0,2 ml Essigsäure) eluiert. Die Bestimmung erfolgt im Bereich von 250 - 320 m μ (Spektralphotometer ZEISS PMQ II).

Absorptionscharakteristik von 4-Hydroxycumarin

Der in den o.a. Formulierungen bestimmte Wirkstoff 4-Hydroxycumarin weist (für Konzentrationen von 1-2 mg/%) in (saurem) Äthanol im Bereich von 230 - 320 m μ die in Abbildung 1 gezeigte Absorptionscharakteristik auf.

Wie Abbildung 1 zeigt, besitzt 4-Hydroxycumarin bei 270, 280 und 300 m μ Maxima.

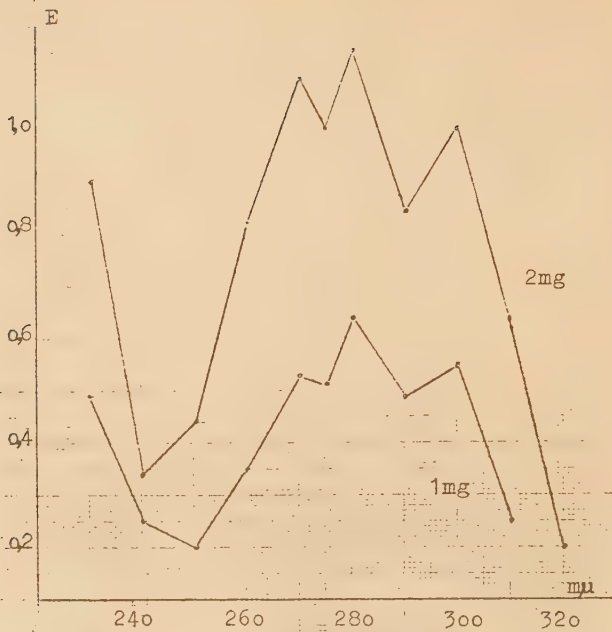


Abb. 1: UV-Absorption von 4-Hydroxycumarin in saurem Äthanol
Abszisse: Wellenlänge (mμ)
Ordinate: Extinktion (E)

4-Hydroxycumarin-Absorption aus Lebergewebe bei direkter Zugabe

Nach Zusatz von 4-Hydroxycumarin (5 mg) bzw. 5 mg Wirkstoff (berechnet mit 1% aus den Formulierungen) zu (50 g) Lebergewebe (von Ratten) erscheinen folgende Absorptionscharakteristika (Abb. 2).

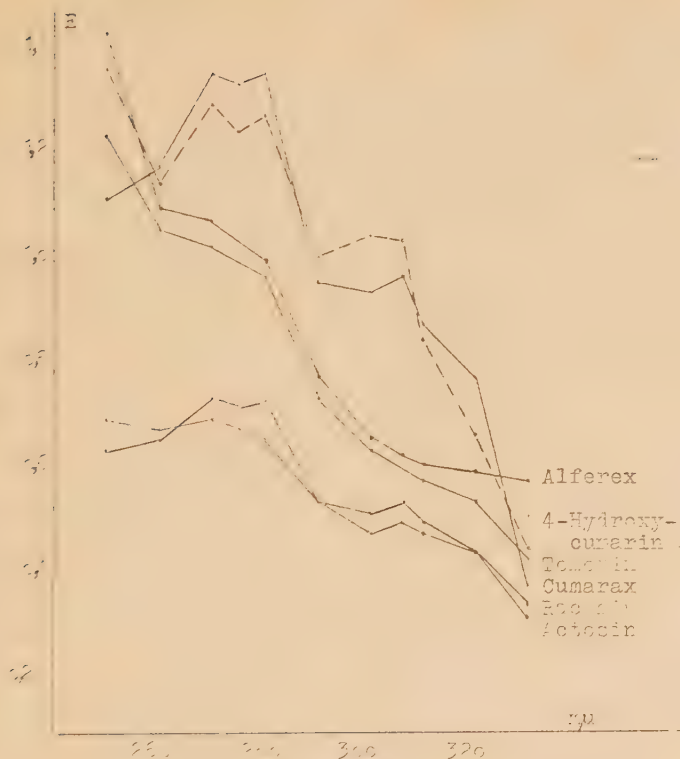


Abb. 2: Absorptionsspektrum von 4-Hydroxycumarin sowie äquivalenter 4-Hydroxycumarinmengen in Formulierungen nach Zusatz zu Lebergewebe.
Abszisse: Wellenlänge (nm)
Ordinate: Extinktion (E)

2. Ergebnisse

A. Versuche mit Ratten

Nach Verabreichung der o.a. Formulierungen entsprechend Wirkstoffgehalten von 1,2,5 und 8 mg/kg, wurde die Leber der Tiere auf Cumarin hin untersucht. (Tiere verendet bzw. nach 6 Tagen getötet).

Für die Dosierung von 5 mg/kg zeigt Abbildung 3 die Absorptionscharakteristik (Verschiebung des UV-Spektrum) nach Leberextraktion.

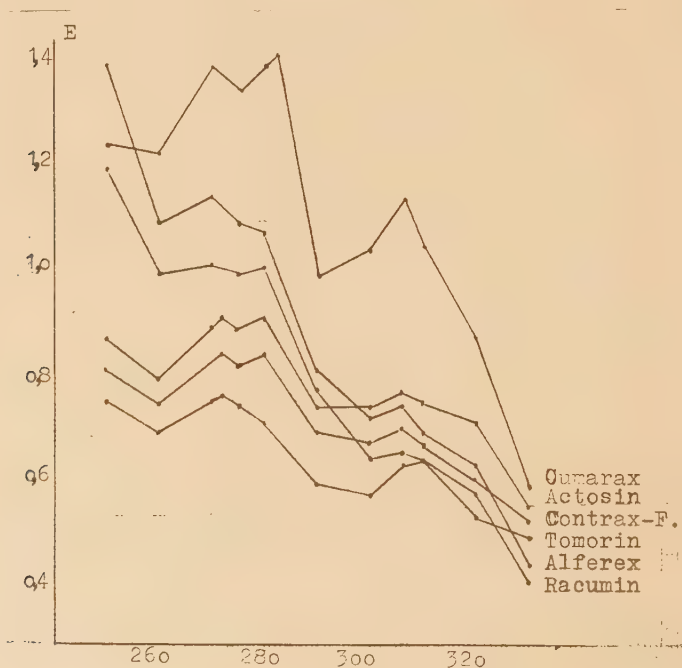


Abb. 3: UV-Absorption von 4-Hydroxycumarin aus den angegebenen Formulierungen. Bestimmung aus der Leber nach peroraler Zufuhr von 5 mg/kg Wirkstoff an Ratten.

Abszisse: Wellenlänge (nm)

Ordinate: Extinktion (E)

B. Versuche mit Hunden

Kasuistik

Nr. 1. Bastard, Rüde, 1 Jahr, 7,7 kg

Cumarax^(R) (Warfarin), 50 mg/kg Körpergewicht (2x)

Vergiftungsverlauf: 1. Tag. Wirkstoffzufuhr. - 2. Tag. Wirkstoffzufuhr, Harn blutig. - 3. Tag. Harn stark blutig. - 4. Tag. Tier apathisch. Husten. Herztätigkeit verstärkt. Atmung normal. Blutiger Harn. - 5. Tag. Starker Husten. Schmerzen beim Harnabsetzen, Harn blutig. - 6. Tag. Tier teilnahmslos, keine Futteraufnahme, angestrengte Atmung. - 7. Tag. Exitus.

Nr. 2. Bastard, Hündin (Dackel), 2 Jahre, 6,4 kg

Contrax^(R)-flüssig (Warfarin), 50 mg/kg (3x)

Vergiftungsverlauf: 1., 2. und 4. Tag. Wirkstoffzufuhr (mit dem Trinkwasser). - 5. Tag. Tier hebt beim Gehen linkes Hinterbein hoch. - 6. Tag. Oberschenkel links hinten angeschwollen. Tier apathisch. Verletzung am Ohr mit ständig blutender Wunde. - 7. Tag. Tier apathisch, keine Futteraufnahme, Tier steht nicht auf, geschwollener Oberschenkel an Umfang zugenommen. - 8. Tag. Tier moribund. Exitus in der Nacht zum 9. Tag.

Nr. 3. Bastard, Rüde, 12 Wochen, 4,4 kg

Actosin^(R)-P. (Warfarin + Pival), 50 mg/kg (3x)

Vergiftungsverlauf: 1., 3. und 9. Tag. Wirkstoffzufuhr. - 4., 5. und 6. Tag. Tier aufmerksam, Futteraufnahme normal. Handgroßes Hämatom an der rechten Brustwand. - 12. Tag. Allgemeinbefinden sehr gestört. - 13. Tag. Angestrengte Atmung, Tier liegt, blasse Schleimhäute. - 14. Tag. Tier tot aufgefunden.

Nr. 4. Gordon Setter, Hündin, 8 Monate, 10 kg

Tomorin^(R) (Cumachlor), 2 mg/kg über 12 Tage (12x)

Vergiftungsverlauf: 1.-10. Tag. Giftzufuhr mit dem Futter. Keine Symptome. - 10. Tag. Tier schwankt an den Hinterextremitäten. - 11. Tag. Giftzufuhr, stärkeres Schwanken. - 12.-13. Tag. Tier apathisch, steht nicht auf, keine Futteraufnahme. - 14. Tag. Blutiger Schaum aus dem Maul. - 17. Tag. Tier eingeschläfert (Magnesiumchlorid i.v.).

Nr. 5. Dackel, Rüde, 2 Jahre, 6,5 kg
Racumin^(R) (Cumatetralyl), 7,5 mg/kg (5x)

Vergiftungsverlauf: 1.-5. Tag. Wirkstoffzufuhr mit Futter. - 4.-7. Tag. Tier apathisch, steht nicht auf, mäßige Futteraufnahme. - 8. Tag. Exitus.

Nr. 6. Pinscher, Rüde, 1 Jahr, 6 kg
Racumin^(R) (Cumatetralyl), 25 mg/kg (6x)

Vergiftungsverlauf: 1.-6. Tag. Wirkstoffzufuhr mit Futter. - 7.-10. Tag. Keine Futteraufnahme. Tier hinkt rechts hinten. Blutiger Kot. - 11. Tag. Exitus.

Nr. 7. Bastard, Hündin, 1 Jahr, 15 kg
Tomorin^(R) (Cumachlor), 23,5 mg/kg (1x)

Vergiftungsverlauf: 1.-2. Tag. Wirkstoffzufuhr mit Magensonde. - 3. Tag. Tier eingeschläfert. (Magnesiumchlorid i.v.). Tier klinisch ohne Symptome.

Nr. 8. Dackel, Rüde, 2 Jahre, 10 kg
Alferex^(R) (Warfarin), 100 mg/kg (1x)

Wirkstoffzufuhr (100 g der Formulierung) innerhalb von 24 Std mit der Sonde. 8 Tage nach Verabreichung Apathie, Verschlechterung des Allgemeinbefindens. Exitus am 13. Tag nach Giftzufuhr. Blutiger Schaum aus dem Maul.

Nr. 9. Pinscher, Hündin, 7 Monate, 5 kg
Cumarax^(R) (Warfarin), 5 mg/kg (5x)

Vergiftungsverlauf: 1.-5. Tag. Wirkstoffzufuhr mit dem Futter. Tier am 5. Tag ruhig, normale Futteraufnahme, Atmung und Puls erhöht. Besserung des Allgemeinbefindens in den nächsten 10 Tagen. - 16. Tag. Verweigerung von wirkstoffhaltigem Futter. Wirkstoffzufuhr nicht fortgeführt. Tier überlebt.

Zerlegungsbefund

Das Obduktionsergebnis für die Versuchshunde Nr. 1-8 läßt sich wie folgt zusammenfassen:

Kollaterale Anämie der Organe. Unterhautblutungen, besonders im lockeren Bindegewebe am Hals, in der Achselhöhle, an den Brustwänden, am Oberschenkel sowie am Schwanzansatz. Hämothorax, Blutungen an Pericard und Mediastinum; Lungenödem. Blutungen der Pleura costalis und des perirenaln Fettgewebes.

Wirkstoffnachweis

Von den verendeten, bzw. getöteten Versuchshunden wurde 4-Hydroxycumarin ausschließlich aus der Leber bestimmt. Bei drei Tieren (Nr. 1,3,7) wurde zusätzlich der Mageninhalt untersucht.

Abbildung 4 zeigt für die Versuchstiere Nr. 1-8 das nach Leberaufarbeitung erhaltene Absorptionsspektrum.

Den entsprechenden Befund für den Mageninhalt der Fälle 1, 3 und 7 gibt Abbildung 5 wieder.

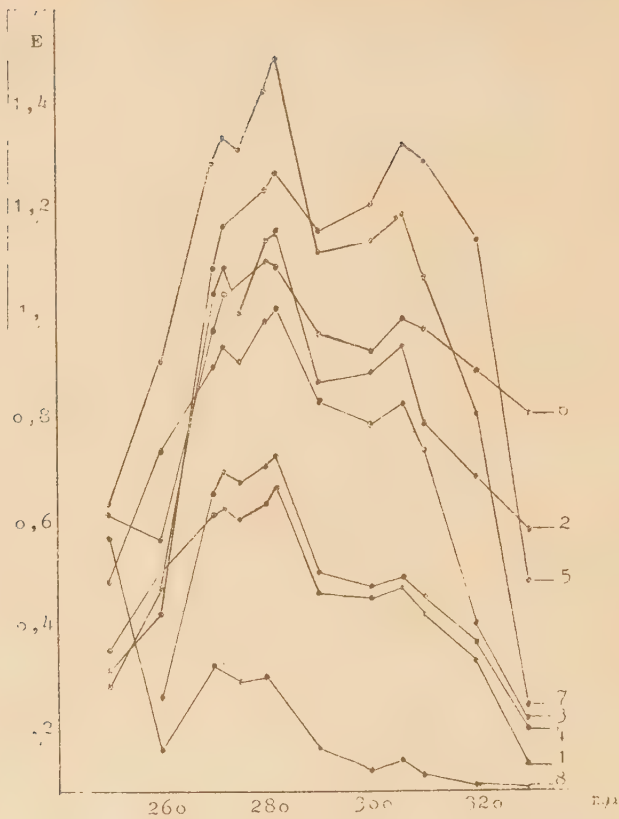


Abb. 4: UV-Spektrum für 4-Hydroxycumarin aus Leberproben cumarinvergifteter Hunde (siehe vorstehender Text).

Abszisse: Wellenlänge (nm)

Ordinate: Extinktion (E)

Numerierung entsprechend Kasuistik

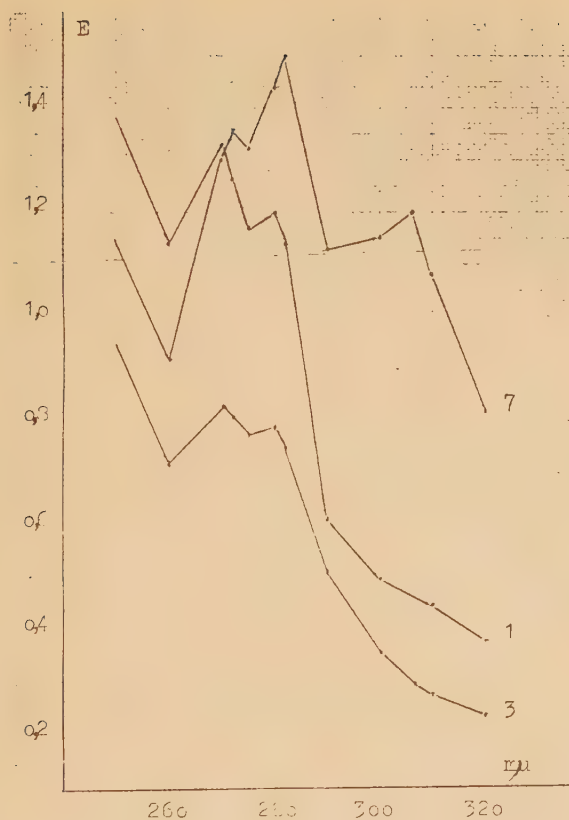


Abb. 5: UV-Spektrum für 4-Hydroxycumarin aus Mageninhalt experimentell cumarinvergifteter Hunde (Kasuistik siehe Text)

Abszisse: Wellenlänge (mμ)

Ordinate: Extinktion (E)

C. Sektionsmaterial

Das Untersuchungsgut bestand aus Organproben (Leber, Niere, Magen mit Inhalt) von 11 Hunden mit Vergiftungsverdacht durch Rodentizide auf Cumarinbasis. (Sektionsmaterial aus dem Tierpathologischen Institut der Universität München; dazu von dort Tagebuchnummern, hier eigene Nummerierung). Angaben nach Untersuchungsbefund und Vorbericht (soweit vorhanden). (Das analytische Ergebnis ist in Abbildung 6 nach der Kasuistik wiedergegeben).

Nr. 1. Schäferhund, Hündin, 12 Wochen. (Tgb. Nr. 1147/68)

Vorbericht: fehlt

Sektionsbefund: Flächige Hämatome in der Subcutis beider Unterarme; hämorrhagisch - infiltrierter Thymus; Hämopericard. Hämothorax. Blutungen der Interkostalmuskulatur sowie ventral am Hals. Kollaterale Anämie.

Histologischer Befund: Multiple Lebernekrose. Verdacht auf Cumarinvergiftung.

Cumarinnachweis: Leber: Cumarin-positiv.

Nr. 2. Pudel, Rüde, 10 Jahre. (Tgb. Nr. 1661/68)

Vorbericht: 14 Tage krank (?)

Sektionsbefund: Multiple Hämatome an der Hinterschenkel-subcutis, am Thorax und im Oberarmbereich. Umschriebene Schleimhautblutungen mit frischem Blutaustritt in Duodenum und Jejunum, multiple Schleimhautblutungen in Dünn- und Dickdarm. Blutungen der Blasenschleimhaut. Subendocardiale Petechien. Darmbeinlymphknoten blutig inhibiert. Knochenmark aktiviert; Milzschwellung mit Knoten. Hämothorax, Lungenödem, alveolares Lungenemphysem. Streifige Zeichnung im Papillenbereich der Nieren.

Ausfall der unteren Schneidezähne.

Verdacht auf Cumarinvergiftung.

Cumarinnachweis: Leber: Cumarin-negativ.

Nr. 3. Deutsch Drahthaar, Rüde, 4 Jahre. (Tgb. Nr. 1082/68)

Vorbericht: fehlt

Sektionsbefund: Schlechte Blutgerinnung. Gastritis katarhalis mit streifenförmigen Usuren in der Schleimhaut. Pankreasblutungen. Koprostase mit follikulärer Hyperplasie des lymphatischen Apparates im Enddarm. Leberschwellung. Abgeheilte Endocarditis der Mitralis, multiple Endocardnarben der linken Vorkammer; hochgradiges, alveoläres Emphysem der Lungen. Prostatahypertrophie. Aktives Knochenmark.

Verdacht auf Cumarinvergiftung.

Cumarinnachweis: Leber: Cumarin-positiv.

Nr. 4. Langhaardackel, Rüde, 9 Jahre. (Tgb. Nr. A 637/68)

Vorbericht: fehlt (Tier verendet).

Sektionsbefund: Blutig-sulzige Durchtränkung der Muskulatur und des lockeren Gewebes ventral am Hals. Hämatome in Mediastinum und Pericard. Hämothorax; hochgradige Prostataparenchymlutungen. Blutkoagulum in der Harnblase. Hämatom im Bereich des retropharyngealen Gewebes. Leberikterus, Leberdegeneration.

Verdacht auf Cumarinvergiftung.

Cumarinnachweis: Leber: Cumarin-positiv.

Nr. 5. Langhaardackel, Rüde, 9 Monate alt. (Tgb. Nr. 568/68)

Vorbericht: Inappetenz seit 2 Tagen, blutiger Kot, Apathie, anämische Schleimhäute mit Petechien.

Sektionsbefund: Blutungen in der gesamten Magen- und Darm-schleimhaut, Blutkoagula im Darmlumen. Flächige Blutungen in Mediastinum, Peritoneum, Mesenterium, Netz und retroperitonealem Gewebe. Leberdegeneration und Ikterus.

Kollaterale Anämie.

Verdacht auf Cumarinvergiftung.

Cumarinnachweis: Leber: Cumarin-positiv.

Nr. 6. Dackel, Hündin, 9 Jahre. (Tgb. Nr. 422/68)

Vorbericht: Apathie, Abdomen schmerzhaft, unstillbare Blutungen, Nachhandlähmung, hochgradige Anämie, Puls fühlbar. Besitzer äußert Rattengiftverdacht.

Sektionsbefund: Blutig-sulzige Durchtränkung von Unterhaut und lockerem Bindegewebe dorsal an beiden Unterarmen und ventral am Hals. Blutungen in Mediastinum, Lunge; Hämothorax. Blut im Magen, diffuser Blutaustritt im Dünndarm. Hochgradige fettige Leberdegeneration. Kollaterale Anämie der Organe.

Verdacht auf Cumarinvergiftung.

Cumarinnachweis: Leber: Cumarin-positiv.

Nr. 7. Boxer-Hündin, 1 1/2 Jahre. (Tgb. Nr. A 446/68)

Vorbericht: Tier gestorben. Innerhalb der letzten 6 Wochen starke Blutungen an Maul und Nase, Dyspnoe, Dämpfung an Zwerchfellappen.

Sektionsbefund: Blutige Durchtränkung im Inguinalbereich, hochgradige blutige Durchtränkung ventral an Hals und Brusteingang. Hämatome in Herzbeutel und Mediastinum. Blutkoagula in beiden unteren Nasengängen und Nebenhöhlen. Hochgradige Blutaspiration in der Lunge. Lungenödem. Flächige Blutungen an Endocard und Pleura costalis. Verdautes Blut im Magen-Darmkanal.

Kollaterale Anämie.

Verdacht auf Cumarinvergiftung.

Cumarinnachweis: Leber: Cumarin-positiv.

Nr. 8. Langhaardackel, Rüde, 7 Jahre. (Tgb. Nr. A 2258/67)

Vorbericht: Gesundes Tier - laut Besitzer - beim Spiel plötzlich verendet.

Sektionsbefund: Hämothorax, ausgedehnte subkutane und intramuskuläre Hämatombildung im gesamten Halsbereich; in Mediastinum, Herzbeutel und unter der Pleura costalis. Multiple Lungenparenchymblutungen. Verdickung der Dünndarmwand, Schleimhautblutungen im Duodenum; Prostatitis purulenta;

Lymphome der Milz.

Verdacht auf Cumarinvergiftung, Herztamponade, Trauma.

Cumarinnachweis: Leber: Cumarin-negativ.

Nr. 9. Deutsch Drahthaar, Rüde, 6 Jahre. (Tgb. Nr. A 243/68)

Vorbericht: Völlige Lähmung, Konjunktivitis. Vergiftungsverdacht.

Sektionsbefund: Mangelhafte Blutgerinnung; Blutungen im lockeren Bindegewebe, vorallem im Bereich der Schultergliedmaßen. Blutungen der Pleura costalis und der Darmserosa. Postmortale Magentorsion.

Cumarinnachweis: Cumarin-positiv (Leber, Niere, Mageninhalt).

Nr. 10. Dackel, Rüde, 7 Jahre. (Tgb. Nr. A 2133/67)

Vorbericht: fehlt

Sektionsbefund: Flächige Unterhautblutungen am Oberschenkel rechts; blutig-sulzige Durchtränkung des lockeren Gewebes am Brusteingang; Hämatom zwischen serösen Blättern von Herzbeutel und Mediastinum; lobäre Lungenparenchymblutungen, Hämothorax. Ausgedehnte Milzparenchymblutung. Kollaterale Anämie von Tierkörper und Organen. Fettleber. Prostatahyperthrophie. Fibrose der Mitralis.

Verdacht auf Cumarinvergiftung.

Cumarinnachweis: Leber und Niere: Cumarin-positiv.

Nr. 11. Schäferhund, Rüde, 4 Jahre. (Tgb. Nr. A 2365/67)

Vorbericht: fehlt

Sektionsbefund: Mangelhafte Blutgerinnung, Blutfülle der inneren Organe (besonders Lunge). Flächige Blutungen an Herzbeutel, Mediastinum und im lockeren Bindegewebe der Schulter- und Lendenmuskulatur. Diffuser Blutaustritt aus der Magenschleimhaut. Blutfülle der inneren Organe auch histologisch nachgewiesen.

Verdacht auf Cumarinvergiftung.

Cumarinnachweis: Leber, Niere und Mageninhalt: Cumarin-positiv.

Das Ergebnis der UV-spektroskopischen 4-Hydroxycumarin-Bestimmung aus der Leber für die beschriebenen Fälle Nr. 1-11 zeigt Abbildung Nr. 6.

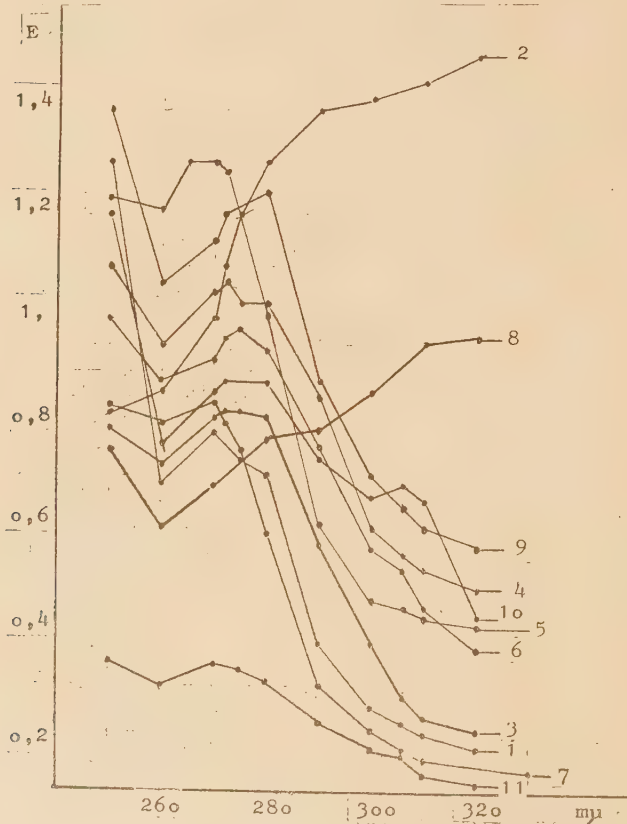


Abb. 6: UV-spektroskopischer 4-Hydroxycumarinnachweis aus der Leber von 11 Hunden (Sektionsmaterial bei Vergiftungsverdacht mit Cumarin-Rodentiziden; siehe vorstehender Text).
Abszisse: Wellenlänge (mμ)
Ordinate: Extinktion (E)

3. DISKUSSION

Der UV-spektroskopische Nachweis von Rodentiziden auf Cumarinbasis in Körpergeweben geht auf GARNER (1956, 1957 a) zurück. (MELTZER 1957 gibt zwei frühere Arbeiten dafür an). Dieses Verfahren wurde (modifiziert) bei einer Anzahl von Untersuchungen angewandt, (GARNER 1956, 1957 a, 1957 b; BLNTZ und KÜHNERT 1959; WANNTORP 1960; ALHA, MUKULA und SAIKKONEN 1961; O'REILLY et. al 1962; MATHOIS, WEISER und KIM 1965; PRIBILLA 1966; FISHWICK und TAYLOR 1967; PUGH 1967), die dem qualitativen (wie teilweise auch quantitativ) Nachweis von Cumarinderivaten in Organen von Mensch und Tier dienen - und damit der Aufklärung dieser Fälle.

Bei den vorher von KLAUSMANN und BROWN (1952) sowie COTCHIN und CARTER (1955) mitgeteilten Fällen von böswilliger, experimenteller bzw. akzidenteller Warfarin-Vergiftung wurde der Vergiftungsnachweis durch vergleichende Sektion, nach Verfütterung von Asservaten an Versuchstieren und durch Prothrombinzeitbestimmung erbracht. Krankheitssymptome nach Cumarinvergiftung (Apathie, blasse Schleimhäute, Herzbeschleunigung, evtl. Hämatome) treten nach WANNTORP (1960) beim Hund erst kurz vor dem Tode auf. Für die Vergiftung sind besonders subcutane Blutungen, Blutungen in Muskulatur und Organen, in Pericard und Mediastinum, sowie große Blutmengen in Brust und Bauchhöhle charakteristisch. LAMMERS (1961) ermittelt experimentell die Toxizität von Cumachlor für Hunde und stellt die Diagnose mit Hilfe der klinischen, hämatologischen (Prothrombinbestimmung) und postmortalen Untersuchung. Die von PRIER und DERSH (1962) angenommene Cumarin-Vergiftung, wonach eine Sekundärvergiftung bei Hunden, Katzen u.a. Tieren nach Aufnahme vergifteter Nagetiere praktisch unmöglich ist, spielt nach EVANS und WARD (1967) doch eine Rolle. Aus Untersuchungen dieser Autoren ist bekannt, daß Nerze und Hunde nach Aufnahme cumarinvergifteter Nutrias verenden können. Dabei sind

Wirkstoff, bzw. wirksame Metaboliten vorallem in der Leber akumulierte, worauf auch bereits die früheren Untersuchungen hinweisen.

Nach vorliegenden Untersuchungen und Ergebnissen ist ein qualitativer Nachweis von Cumarinderivaten mittels der UV-spektroskopischen Methode zu erbringen. Er setzt jedoch eine aufwendige Extraktions- und Reinigungsphase voraus.

Da hier im Handel erhältliche Cumarinderivate benutzt wurden, hat man sich für praktische Belange ein Gesamtbild hinsichtlich Wirkung, Symptome, anatomischer Veränderungen sowie der analytischen Ergebnisse zu machen.

Im Vergleich zu den von GARNER (1956, 1957 a, 1957 b) angegebenen Resultaten, sind bei den vorliegenden Ergebnissen der nach Sektion zur Untersuchung gelangten Hunde - bei Übereinstimmung bezüglich der UV-Maxima für die Wirkstoffe - Abweichungen aufgetreten.

Dies darf - worauf GARNER (1957 b) bereits hinwies - zur Annahme führen, daß nach links verschobene Maxima die Anwesenheit von Cumarin-Metaboliten darstellen. Mit Sicherheit stört dabei nicht abgetrenntes organisches Material. Versuche zur Identifikation von Cumarinmetaboliten wurden hier nicht angestellt. Untersuchungen, den Warfarinstoffwechsel spektroskopisch zu erfassen hat GARNER (1957 b) beschrieben. Als ein wesentlicher Grund für die Spektrumverschiebung ist wohl darin zu sehen, daß die Tiere längere Zeit mit Vergiftungssymptome am Leben waren, möglicherweise behandelt wurden und erst verhältnismäßig spät nach der Sektion zur toxikologischen Untersuchung gelangten.

Es ist anzuraten, die chemische Untersuchung sobald wie möglich durchzuführen. Andernfalls müssen die Proben tiefgekühlt aufbewahrt werden. Es hat sich bestätigt, daß nach zweimonatiger Aufbewahrung im Tiefkühlschrank Cumarinderivate in Asservaten noch nachweisbar sind.

Im allgemeinen kann ausgesagt werden, daß diese Nachweismethode dann zu empfehlen ist, wenn ein Vorbericht bekannt wurde und der Sektionsbefund auf eine Cumarinvergiftung hinweist. Selbstverständlich kann mittels UV-Spektroskopie nicht zwischen den einzelnen Handelsformulierungen (verschiedene Cumarinderivate) unterschieden werden.

Die mit Ratten angestellten Versuche ergaben das typische Bild der Cumarin-Vergiftung. Die Tiere verendeten zwischen dem 3. und 6. Tag nach Versuchsbeginn. Die klinischen Symptome variierten von Tier zu Tier. Die Sektionsbefunde waren jedoch ziemlich einheitlich. Eine Abhängigkeit zwischen aufgenommener Giftmenge und pathologischen Veränderungen war nicht zu erkennen.

Für den Hund gibt WANNTORP (1960) als tödliche Menge 20 mg/kg Cumachlor bei einmaliger Verabreichung an, während für die Ratte die LD 50 bei 1200 mg/kg Cumachlor liegen soll. Bei täglicher Cumachlorgabe sind nur 0,3 mg/kg notwendig, die am 10. Tage zum Tode führen. Wurde Hunden Cumachlor in Mengen bis zu 0,9 mg/kg Kgw. einmalig verabreicht, waren innerhalb der nächsten 10 Tagen keine Krankheitssymptome zu verzeichnen (LAMMERS 1961). Die tödliche Dosis für Hunde und Katzen ist von GARNER mit 1 mg/kg Wirkstoff angegeben, wenn Warfarin wiederholt über eine Woche hin aufgenommen wird. Die Empfindlichkeit gegenüber Oxycumarin ist individuell sehr verschieden. Blutungen konnten nach Aufnahme von 3 mg/kg Kgw. am 5. Tage nach Verabreichung festgestellt werden (RUTQUIST and BORNFORSS 1954). In vorliegenden Versuchen lag die Überlebenszeit nach Beginn der Giftzufuhr der Hunde, die von selbst starben, zwischen 7 und 14 Tagen. Die Überlebensperiode scheint von Größe und Art der Dosierung relativ unabhängig zu sein. Bei einigen Tieren war Urin mit Blut vermischt, bei kleinen Verletzungen traten die bekannten unstillbaren Blutungen auf.

4. ZUSAMMENFASSUNG

Mittels UV-Spektroskopie wurde ein Nachweis von Rodentiziden auf Coumarinbasis bei experimenteller Vergiftung von Ratten und Hunden sowie in einer Reihe von Vergiftungsfällen bei Hunden mit Verdacht einer Coumarinvergiftung erbracht.

Der Nachweis (aus Lebergewebe) ist qualitativ und gestattet keine Unterscheidung zwischen den Coumarinderivaten Warfarin, Coumachlor und Coumatetralyl. Er zeitigt bei Tiefkühlagerung von Asservaten auch nach Monaten positive Ergebnisse.

Die angewandte Methode (Wirkstoffisolierung und -nachweis) hat sich in vielen Untersuchungen (einschließlich der Gerichtsmedizin beim Menschen) bewährt und kann - bei gegebenem Anlaß - zur Sicherung der Diagnosestellung in der Veterinärmedizin empfohlen werden.

SUMMARY

Rodenticides on basis of coumarin were detected in experimental poisoning of rats and dogs, like in a series of cases of poisoning of dogs with suspicion of poisoning with coumarin.

The detections by means of UV-spectroscopy are qualitative and does permit no distinction between the coumarin-derivates warfarin, coumachlor and coumatetralyl. Deep-freezing of organs give positive results yet after months.

The method (isolation and detection of the substance) is proved in many inspects (including forensic medicine) and can be recommended to confirm the diagnosis in veterinary medicine.

IV. LITERATURNACHWEIS

ALHA, A.R., MUKULA, A.L. u. SAIKKONEN, J.:
Zum Nachweis von Warfarin bei einem Selbstmordfall,
Arch. Toxikol. 19, 211 (1961)

BENTZ, H. u. KÜHNERT, M.:
Zur Vergiftung durch Cumarinderivate und deren Nachweis,
Mh. Vet. Med. 14, Sonderheft 1, 26 (1959)

BOWDEN, R.S., BAXTER, M.U. a. HODGMAN, F.J.
Warfarin poisoning at derby greyhound stadium,
Vet. Rec. 72, 102 (1960).

COTCHIN, E. a. CARTER, J.:
Warfarin poisoning in a dog,
Vet. Rec. 67, 753 (1955)

ERLENBECK, K.:
Zur Toxikologie von Cumarinverbindungen,
Vet. med. Diss., Berlin 1966

EVANS, J. a. WARD, A.L.:
Secondary poisoning associated with anticoagulant-killed
nutria,
J. Amer. Vet. med. Ass. 151, 856 (1967)

FISHWICK, F.B. a. TAYLOR, A.:
The determination of warfarin in animal relictia,
Analyst 92, 192 (1967)

GARNER, R.J.:
The detection of warfarin and coumachlor in relictia,
Nord. Vet. med. 8, 514 (1956)

GARNER, R.J.:

Diagnosis of warfarin poisoning by chemical methods,
Vet. Rec. 69, 383 (1957 a)

GARNER, R.H.:

A spectroscopic study of the fate of warfarin and couma-
chlor in the rat,
Nord. Vet. Med. 2, 464 (1957 b)

KLAUSMANN, B.S. a. BROWN, H.W.:

Report of a series of deliberate warfarin poisonings:
suggested treatment,
Vet. Med. 47, 235 (1952)

LAMMERS, H.:

Zur Toxizität der Rodentizide auf Coumarinbasis für den
Hund unter besonderer Berücksichtigung des Tomorin (Geigy),
Tierärztl. Umsch. 16, 309 (1961)

MATHOLS, H., WEISER, M. u. KIN, T.E.:

Toxikologische und patho-physiologische Studien an künst-
lich mit Coumachlor vergifteten Schafen,
Arch. exp. Vet. Med. 19, 915 (1965)

MELTZER, H.:

Zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von 4-Oxycu-
marin-Derivaten,
Nachr. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. 11, 233 (1957)

O'REILLY, R., AGGELER, P.M., HOAG, M.S. a. LEONG, L.:

Coumarin anticoagulant drugs. The assay of warfarin and
its biologic application,
Thromb. Diath. Haemorrhag. 8, 82 (1962)

PRIBILLA, O.:

Mord durch Warfarin,

Arch. Toxikol. 21, 235 (1966)

PRIER, R.F. a. DERSE, P.H.:

Evaluation of the hazard of secondary poisoning by warfarin-poisoned rodents,

J. Amer. Vet. med. Ass. 140, 351 (1962)

PUGH, B.M.:

A description of the effects of the rodenticide warfarin on terminal pregnancy in the cow and the rat, together with chemical techniques for its detection in meal, urine and blood,

Vet. med. Diss. Zürich 1967

RÜSSEL, H.:

Zum Nachweis von Cumarinvergiftungen,

Dtsch. Tierärztl. Wsch. 1964, 612

RUTQUIST, L., BÖRNFORS, St. u. BRAG, St.:

Einige klinische Erfahrungen experimentell bewirkter Dicumarolvergiftung beim Hund,

Nord. Vet. med. 6, 423 (1954)

TAYLOR, W.M.:

"Warfarin" poisoning in the dog,

Vet. Rec. 64, 722 (1952)

WANNTORP, H.:

Studies on chemical determination of warfarin and coumachlor and their toxicity for dog and swine,

Acta pharmacol. et toxicol. 16, suppl. 2 (1960)

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. K. Zipf danke
ich für die Überlassung des Themas, für den
Arbeitsplatz in seinem Institut und für die
großzügige Unterstützung der Durchführung
der Versuche.

Für die Betreuung der Arbeit danke ich
Herrn Dr. G. Schreiber.

LEBENS LAUF

Am 22. Januar 1941 wurde ich als Sohn des Volksschullehrers Huberto Schwieters und seiner Ehefrau Ida Maria, geb. Zúccolo in Rosario/Argentinien geboren.

Nach sechsjährigem Volksschulbesuch trat ich 1954 in das "Colegio Nacional San Lorenzo" ein, wo ich nach fünf Studienjahren mein Examen ablegte, das dem deutschen Abitur entspricht.

Im Mai 1960 kam ich nach Deutschland und nahm im Wintersemester 1960/61 an der Universität München das Studium der Tiermedizin auf. Nach einer Unterbrechung durch eine Studienreise nach Argentinien (im Sommersemester 1964) bestand ich im Mai 1967 die tierärztliche Prüfung.

Zur Zeit bin ich als wissenschaftlicher Assistent im Institut für Makroskopische Anatomie der Tiere der Universität München tätig.

